Untersuchungen über die Umsetzung der Proteine mit Formaldehyd unter Verwendung von Modellsubstanzen

DISSERTATION

von

WILHELM ETIENNE BÖTTCHER

Untersuchungen über die Umsetzung der Proteine mit Formaldehyd unter Verwendung von Modellsubstanzen

INAUGURALDISSERTATION

der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Bern
zur Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

WILHELM ETIENNE BÖTTCHER

von

Landsberg (Deutschland)

Von der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
auf Antrag des Herrn Prof. Dr. R. Signer angenommen.

Bern, den 19. Januar 1956.

Der Dekan:
Prof. Dr. W. Feitknecht

Gekürzte, von der Fakultät angenommene Fassung.
Mikrofilmkopien der ungekürzten Dissertation sind von der
Stadt- und Hochschulbibliothek Bern erhältlich.

Bern - Buchdruckerei W. Friedli - 1956

Unter der Leitung von

Herrn Dr. Hans Nitschmann, damals Privatdozent,

wurde die vorliegende Dissertation im organisch-chemischen Institut der Universität Bern im Frühling 1944 begonnen, im Frühling 1947 beendet und der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät im Dezember 1955 in unveränderter Form vorgelegt.

Die Arbeiten wurden zum Teil im Institut für organische Chemie, zum grösseren Teil aber im Forschungslaboratorium der Papierfabrik Perlen ausgeführt.

Für die wertvollen Anregungen während meines ganzen Studiums, für das dauernd freundliche Entgegenkommen und die vielen Ratschläge zur vorliegenden Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. Nitschmann meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Die späte Einreichung der vorliegenden Dissertation hängt mit starker beruflicher Inanspruchnahme zusammen.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

In dankbarer Erinnerung sei der Herren

Walter Naef †, alt Verwaltungsrats-Präsident

P. H. Herren †, alt Techn. Direktor

der Papierfabrik Perlen AG., Perlen bei Luzern,

auch an dieser Stelle ehrend gedacht. Ich schätze es ausserordentlich, dass ich ihre wohlwollende Unterstützung in mannigfaltiger Hinsicht erfahren durfte.

Ferner gedenke ich dankbar all derer, die mir während meiner Arbeit in guter Kameradschaft zur Seite standen.

Inhaltsverzeichnis

Seite

Einleitung 7

I. Theoretischer Teil

1. *Literatur-Bearbeitung* (Übersicht)

A. Formaldehyd-Reaktionen mit anorg. N-haltigen Verbindungen 12

B. Formaldehyd-Reaktionen mit org. Amino- und Amido-Verbindungen 14

a) Alipathische Amine 14

1. Monoamine 14

2. Diamine 16

3. Monoamine (unter sauren Bedingungen) . . 17

4. Mono-, Diamine und ihre Salze (unter extremen Bedingungen) 17

b) Aromatische Amine 18

c) Amide 21

1. Monoamide 22

2. Harnstoff 24

3. Harnstoff-Formaldehydharze 28

4. Substituierte Harnstoffe und Harnsäure . . . 32

5. Diamide 35

d) Imide 37

e) Urethane (Carbamate) 38

f) Thioharnstoff und Guanidin 39

g) Aminonitrile, Cyanamide und Cyanamid-Polymere . 41

h) Aminosäuren, -Ester, -Amide und substituierte Aminosäureamide 44

C. Formaldehyd-Reaktionen mit Proteinen 56

2. *Kritische Literaturbetrachtung* 66

II. Experimenteller Teil 69

1. *Eigene Problemstellung* 69

2. *Auswahl der Modellsubstanzen und ihre Darstellung* . 69

A. Modellsubstanzen 69
a) Verbindungen mit primären Aminogruppen . . 69
b) Verbindungen mit Peptid-Gruppierung . . . 70

B. Darstellung der Modellsubstanzen 70
a) N-α-acetyl-lysin 70
b) ε-Aminocapronsäure 76
c) Dimethylol-Diketopiperazin 78
d) Dichloromethyl-Diketopiperazin 79

3. *Erste orientierende Versuche mit diesen Modellsubstanzen zur gegenseitigen Verknüpfung durch Methylenbrücken* 81

A. Dipiperidomethyl-Diketopiperazin 81
B. Methylen-di-N-α-acetyl-lysin 82
C. Methylen-di-Aminocapronsäure 83
D. Versuche zur Kondensation von Aminocapronsäure mit Dimethylol-Diketopiperazin, bezw. Dichloromethyl-Diketopiperazin 85
a) Mit Dimethylol-Diketopiperazin 85
1. Reaktion unter Anwendung von Lösungsmitteln . 85
2. Reaktion im Schmelzansatz 88
b) Mit Dichloromethyl-Diketopiperazin 88
1. Reaktion unter Anwendung von Lösungsmitteln . 89
2. Reaktion im Schmelzansatz 93

4. *Bemerkungen zu den Versuchsergebnissen* . . . 98

Zusammenfassung 100

Literatur-Verzeichnis 102

Autoren-Register 108

Zusammenfassung

(nachträglich ergänzt)

Die bis 1946 von H. NITSCHMANN und Mitarbeitern durchgeführten Untersuchungen hatten gezeigt, dass der Härtungs- und Gerbeffekt, den Formaldehyd auf Proteine ausübt, darauf beruht, dass die Proteinmoleküle durch $-CH_2-$Brücken miteinander verbunden werden, sodass ein dreidimensionales Hauptvalenznetz entsteht. Ferner war sicher nachgewiesen worden, dass der Formaldehyd bei der Brückenbildung auf der einen Seite an den freien Aminogruppen angreift. Welche Gruppe den anderen «Brückenkopf» abgibt, konnte nicht ermittelt werden, jedoch sprachen damals verschiedene Beobachtungen dafür, dass es Peptidiminogruppen (-NH-CO-) sein könnten.

In der vorliegenden Arbeit sollte versucht werden, unter Verwendung einfacher Moleküle Modellreaktionen vom beschriebenen Typus durchzuführen. Wir versuchten, Amine durch Formaldehyd mit Peptiden zu verknüpfen. Dabei hofften wir, einheitliche, kristallisierte Verbindungen zu erhalten, deren Konstitution mit den klassischen Methoden zu ermitteln wären.

Als Amino-Komponente wurde dargestellt N-α-Acetyllysin und ε-Aminocapronsäure. Als Peptid-Komponente wurde gewählt Diketopiperazin, von dem frühere Autoren schon nachgewiesen hatten, dass es leicht Formaldehyd anlagert (Dimethyloldiketopiperazin). Zu den bereits beschriebenen Synthesen dieser Verbindungen konnten eine Reihe von Verbesserungen gefunden werden.

Zuerst wurde alsdann das Verhalten von Formaldehyd bei Zimmertemperatur gegenüber N-α-Acetyllysin einerseits und gegen ε-Aminocapronsäure andererseits unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Aus den analytischen Daten konnte geschlossen werden, dass Formaldehyd nicht nur zu Methylolverbindungen angelagert wird, sondern dass es zur zwischenmolekularen Kondensation unter Bildung von $-CH_2-$Brücken kommt. Kristallisierte Verbindungen konnten allerdings keine erhalten werden.

Das Hauptbemühen galt dann der Kondensation von ε-Aminocapronsäure mit Dimethyloldiketopiperazin unter Variation des

Lösungsmittels, des pH's und der Temperatur. Trotz vieler Versuche wollte es nicht gelingen, aus diesen Reaktionsmischungen kristallisierte Verbindungen zu isolieren, und es konnte jeweils nur indirekt erschlossen werden, dass die gesuchte Molekülverknüpfung über $-CH_2-$Brücken stattgefunden hatte. Da beide Reaktionspartner je zweifach reaktiv sind, sind eben verschiedene Reaktionsprodukte möglich. Die Reaktion verläuft aber auf alle Fälle viel weniger leicht als die Härtung von Proteinen mit Formaldehyd unter gleichen Bedingungen.

Schliesslich wurde probiert, das gesuchte Formaldehydkondensat zwischen ε-Aminocapronsäure und Diketopiperazin mit Hilfe von Dichloromethyl-diketopiperazin herzustellen. Doch auch hier verlief die Reaktion wiederum stets uneinheitlich, und es liessen sich keine kristallisierten Produkte isolieren. Versuche zur chromatographischen Trennung führten (mit den 1946 bekannten Methoden!) ebenfalls nicht zu reinen, kristallisierbaren Substanzen.

Die Ergebnisse unserer Versuche sprachen dagegen, dass bei der Formaldehydhärtung der Proteine die Querbindungen zwischen Amino- und Peptidgruppen eintreten. In der Tat erschien auch bald nachdem diese Arbeit abgeschlossen war, eine Publikation von H. FRAENKEL-CONRAT, J.Am.Chem.Soc.,**70**,2673 (1948) in welcher nachgewiesen wurde, dass die Brückenbindung zwischen Amino- und Amidgruppen ($-CO-NH_2$) stattfindet.

Der theoretische Teil (dem experimentellen Teil vorausgeschickt) enthält eine tabellarische Übersicht der Ergebnisse aller wichtigeren Arbeiten über die Umsetzungen des Formaldehyds mit niedermolekularen, organischen Stickstoffverbindungen. Diese Zusammenstellung hatte den Zweck, die Planung neuer, mehr Erfolg versprechender Modellreaktionen zur Formaldehydhärtung der Proteine zu erleichtern. Die verschiedenen Möglichkeiten wurden einer kritischen Betrachtung unterzogen.

Lebenslauf

Am 14. Juli 1907 wurde ich, Wilhelm Etienne Böttcher, von Landsberg, Deutschland, in Lyon, Frankreich, geboren. Meine Jugendjahre führten mich an Schulen der Orte Monte Carlo, Landsberg bei Halle a. S., Berlin und der Schweiz, der Heimat meiner Mutter, schliesslich nach Château d'Oex und Interlaken. 1924—26 besuchte ich die Fachschule für Chemie am Kant. Bernischen Technikum in Burgdorf. Nach abgelegter Diplomprüfung trat ich in die Praxis über mit einer ersten Anstellung bei der Firma F. Hoffmann-La-Roche, Basel, einer zweiten bei der Cellulose- und Papierfabrik Perlen, Perlen bei Luzern und meiner dritten am Pharmazeutischen Institut der Universität Bern, als Privatassistent von Prof. Dr. P. Casparis. Im Herbst 1937 verheiratete ich mich. 1939, im Frühling, nahm ich das Chemiestudium erneut auf, diesmal in wissenschaftlicher Richtung an der Berner Universität, um mich mit dem ständigen Fortschritt unseres Faches gründlich vertraut zu machen. Als Nebenfächer wurden belegt Physik und Botanik.

Diese neben meiner beruflichen Tätigkeit ausgeführten Studien konnte ich nur dank dem allseitigen Entgegenkommen und dank günstiger Umstände während der auch für mich ungewissen und schwierigen Kriegs- und Nachkriegsjahre aufrecht erhalten.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547619_0103